

Válasz Szakonyi Zsolt egyetemi tanár bírálatára

Mindenekelőtt köszönöm Szakonyi Zsolt professzor úrnak, az MTA doktorának disszertációm alapos bírálatára fordított idejét, a dicsérő észrevételeket és a kritikai megjegyzéseket is.

A bírálatban felsorolt megjegyzésekkel egyetérték, a kérdésekre az alábbiakban válaszolok.

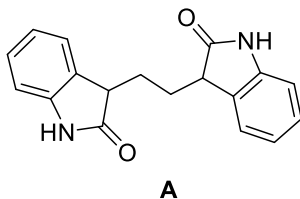
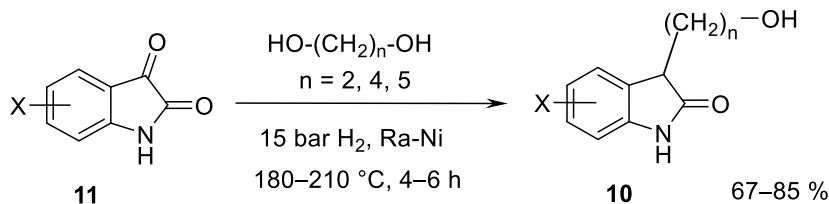
1. Kérdés: A 2.5. fejezetben leírt 3-alkilezési reakciókban alkalmazott Ra-Ni katalizátor alkalmazása mennyire elfogadott a gyógyszeriparban?

Válasz: Heterogén katalitikus hidrogénezési reakciók katalizátoraként a Raney-nikkel kevésbé elterjedt a gyógyszeriparban, mint a csontszénen palládium, mindazonáltal nem mondható ritkának a használata, még laborszintnél nagyobb méretekben sem. Releváns példaként említhetem az Egis Gyógyszergyárat, ahol az elmúlt 10 évben csaknem 10 különböző technológiában használtunk Raney-nikkelt félüzemi vagy nagyüzemi sarzsméretben. A legnagyobb léptékű rutin gyártásunk során az üzemi kollégák alifás nitrilcsoportot alakítottak aminometil funkcióvá ammóniás közegben. A kiindulási anyagra nézve a sarzsméret 133 kg volt, és 15 kg vizes Raney-nikkel katalizátort mértek be a reakcióhoz. Természetesen a Raney-nikkel pirofóros jellege miatt a megfelelő óvintézkedések mellett kell a technológiát végrehajtani, de mint ez a példa is jól mutatja, a reakció nagy sarzsméretben is biztonságosan kézben tartható.

A másik mérlegelendő szempont a gyógyszerekben megengedett nehézfém maradék mennyisége. Ebben a tekintetben a nikkellel szemben a határérték megengedőbb, mint palládium és platina esetén.

2. Kérdés: A 2.5.2. fejezetben leírt, 3-(ω -hidroxialkil)oxindolok előállítása során lát-e lehetőséget a terminális hidroxilcsoport oxidációjára és esetleges dimer képződésre? Találtak-e esetleg erre utaló jeleket?

Válasz: Igen. Bár erre a megfigyelésünkre – mint előzményre – a disszertációm irodalmi részében terjedelmi okokból nem tértem ki, valóban tapasztaltunk ilyen reakciót. Amennyiben 5 ekvivalens etiléniglikolt alkalmaztunk a reakcióban és THF volt az oldószer, az **A** képletű mellékterméket kb. 10 % hozammal tudtuk kinyerni a reakcióelegyből, diasztereomer keverékként.



Az etilénlikolt oldószerként, tehát jóval nagyobb feleslegben alkalmazva e melléktermék képződése olyan mértékben visszaszorítható volt, hogy a főtermék (**10**, X=H, n=2) kristályosodását és tisztán történő kinyerését nem zavarta. Bután-1,4-diollal még 5 ekvivalens mennyiségben történő alkalmazása esetén sem tapasztaltuk hasonló dimerszerű termék képződését.

3. Kérdés: A 2.8.5. fejezetben bemutatott módszert mennyire látja általánosan használhatónak kémiai szerkezettől függetlenül metabolit szerkezet előrejelzésére?

Válasz: A relatív retenciós időkön alapuló metabolit azonosítási módszerünk felfedezése az oxindol származékokhoz köthető. Részben ezért, részben a vegyületcsaládban előállított több száz molekula és az ebből adódó megalapozott megállapítások miatt publikáltuk a megfigyelést az oxindolok példáján. Tapasztalataink szerint ugyanakkor a módszer több más vegyületcsaládnál is jól alkalmazható volt. Például az Egis korábbi originális kutatásában kiemelt szerepet játszó 2,3-benzodiazepin származékok esetében is hasonló összefüggések rajzolódtak ki, de sajnos az originális kutatás leállítása miatt a referens hidroxilezett vegyületek előállítására ebben a családban már nem maradt lehetőségünk, így ezek az eredmények publikálatlanok maradtak.

4. Kérdés: A 2.8.6. fejezetben a 46. oldal második bekezdésben szerepel, hogy az egyes enantiomerek hatása a FST tesztben mindkét esetben gyengébbnek bizonyult, mint a racém vegyületé. Erre van-e valamilyen magyarázat, hiszen meglehetősen furcsa?

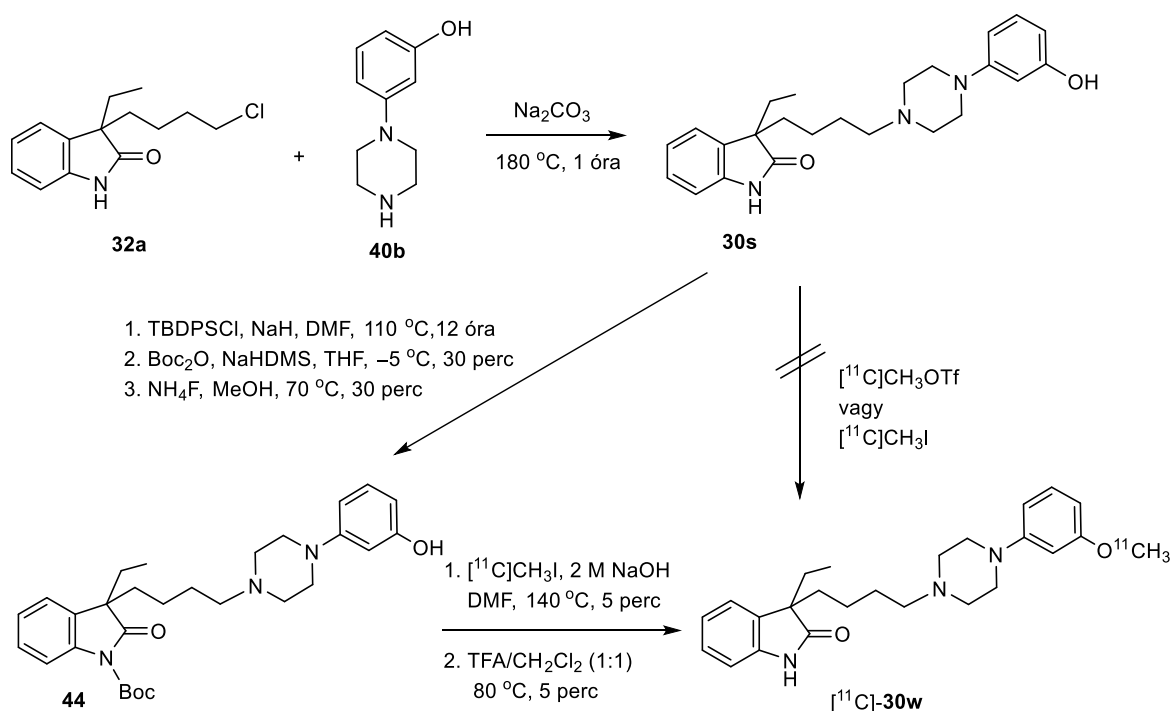
Válasz: Az eredmény minket is meglepett.

teszt kategóriája	teszt neve	EGIS-12233 (racém)	EGIS-12901 (+)	EGIS-12902 (-)
anxiolitikus tesztek	emelt keresztlabirintus teszt (patkány, p.o., MED, mg/tkg)	0,03	≤ 0,01	≤ 0,01
	emelt keresztlabirintus teszt (egér, i.p., MED, mg/tkg)	0,3	≤ 0,3	3
	Vogel-féle ivási konfliktus teszt (patkány, i.p., mg/tkg)	5	10	> 10
	fény-sötét teszt (egér, i.p., MED, mg/tkg)	1	0,3	> 10
	mCPP-indukált fény-sötét teszt (patkány, i.p., MED, mg/tkg)	3	0,3	> 10
antidepressz- száns tesztek	Porsolt-féle kényszerített úszási (FST) teszt (egér, i.p., MED, mg/tkg)	3	> 30	> 30
	Tanult kilátástalanság) teszt (patkány, MED, mg/tkg)	n.a.	10	n.a.

Figyelembe véve, hogy az EGIS-12901 a többi anxiolitikus és antidepresszáns teszten kivétel nélkül mindegyiken hatékony volt, az enantiomere (EGIS-12902) viszont egyiken sem, a meglepetés voltaképpen nem is az, hogy a racém vegyület (EGIS-12233) hatékony volt a Porsolt-teszten, hanem inkább az, hogy az EGIS-12901 az alkalmazott dózisban nem hatott. Ennek felderítésére az EGIS-12901 Porsolt-tesztjét tulajdonos cégünk, a Servier laborjában is elvégezték, ott magasabb, 50 mg-os dózisban szignifikáns hatást mutatott, ami inkább megfelelt a várakozásunknak. A vegyület további fejlesztése esetén a helyzet pontosabb körüljárása valóban szükséges lett volna, pl. egyes mérések megismétlésével, illetve annak felderítésével, hogy a racémában az enantiomerek nem befolyásolják-e egymás felszívódását. Mivel azonban az EGIS-12901 fejlesztését a disszertációban is említett, *in vitro* mérések alapján valószínűsített kardiovaszkuláris mellékhatásai miatt leállítottuk, a teljes feltérképezésre nem volt módunk.

5. Kérdés: Ugyancsak érdekes és értékes része az értekezésnek a ^{11}C radioligandumok kifejlesztése (2.8.7.). Mi lehetett az oka a **32s** esetén az egyébként klasszikusnak mondható *O*-alkilezési eljárások sikertelenségének?

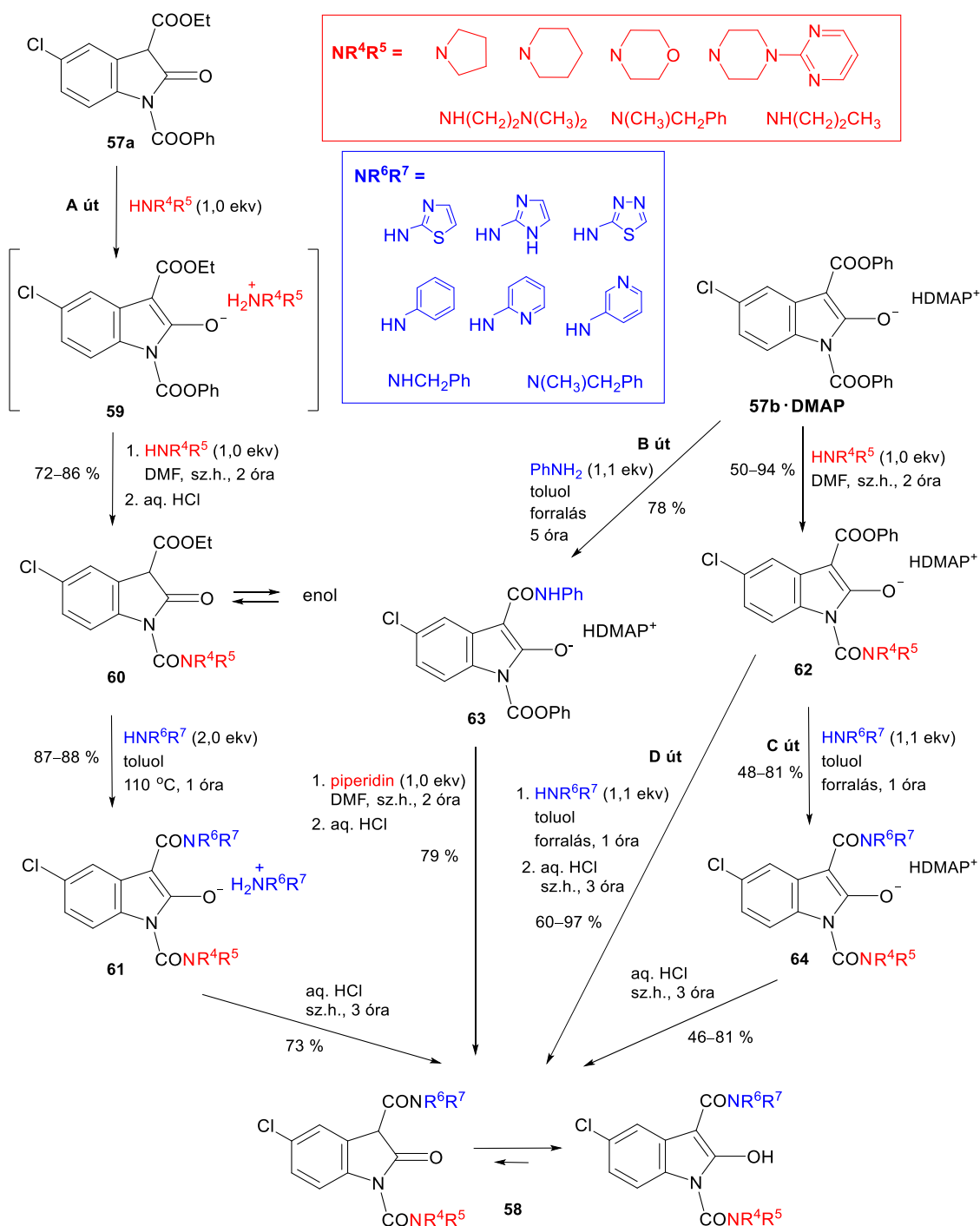
Válasz: A bíráló itt minden bizonnyal a 38. ábrán szereplő **30s** vegyületre gondol, melynek közvetlen *O*-alkilezése ^{11}C izotópjelzett metil-trifláttal és metil-jodiddal nem a várt [^{11}C]-**30w** vegyülethez vezetett.



Mivel a nitrogénatomon szubsztituálatlan oxindolok az irodalom tanúsága szerint még gyenge bázisokkal (pl. Na_2CO_3) is deprotonálhatóak a savamid nitrogénen, a sikertelen *O*-alkilezésnek, illetőleg a termékkeverék keletkezésének hátterében az állt, hogy a **30s** vegyület NaOH-os deprotonálása és alkilezése során *N*-alkil, *O*-alkil és *N,O*-dialkil származékok keveréke keletkezett. Ezért volt szükség végül a jóval hosszabb, **44** vegyületen keresztül vezető védőcsoportos szintézisstratégiára.

6. Kérdés: A 46. (kicsit zsúfolt) ábrával kapcsolatban felmerülő kérdés, hogy nem figyeltek-e meg az adott körülmények között esetleges transzamidálódást?

Válasz: Az amidálási reakciók meglepő reaktivásbeli különbséget mutatnak az alkalmazott aminok tekintetében. Az 1-es pozícióba elsősorban alifás szekunder aminok, a 3-as pozícióba főként aromás aminok vezethetők be. Ezeken kívül az alábbi ábra (a disszertációban 46. ábra) bekeretezett része mutat még néhány alkalmazható amint. Az 1-es pozícióba aromás amint, illetve a 3-as helyzetbe aliciklusos szekunder amint számos próbálkozás ellenére sem sikerült bevinni.

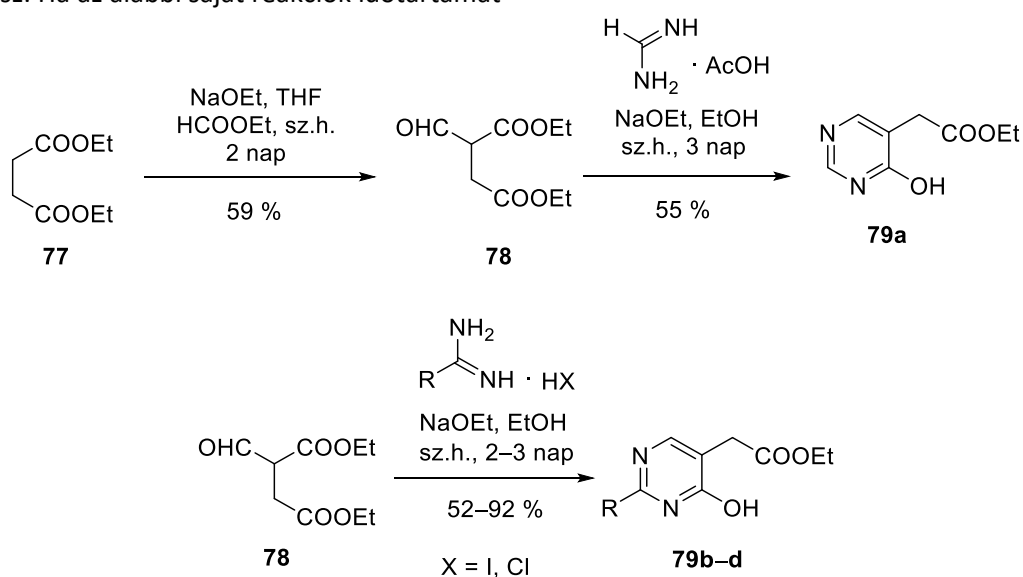


Érdekes módon egyetlen amint sikerült találunk, az *N*-metilbenzilamint (disszertáció 61. old., ill. fenti ábra), amely akár egyik, akár másik pozícióba bevezethető volt. Mivel a transzamidálódás feltétele egynél több olyan amin lenne, amely mind a két pozícióba beépíthető, és a reakciósor végrehajtása éppen ezekkel a „konkuráló” aminokkal, jelenlegi tudásunk szerint a transzamidálódás veszélye nem fenyeget.

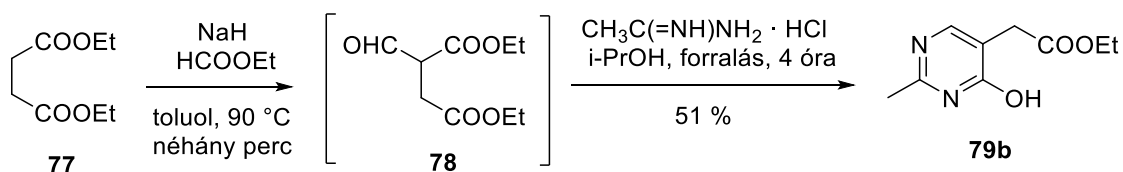
Megjegyzendő, hogy az aminok szerinti érdekes reaktivitásbeli különbséget számításos módszerrel tervezzük még vizsgálni és publikálni.

7. Kérdés: Mi az oka, hogy az 53. ábra első lépése során a 2 napos, 59%-os kitermelésű, majd a következő lépésben a 3 napos 55%-os reakciót alkalmazták, az 51. ábrán bemutatott, lényegesen egyszerűbbnek és gyorsabbnak tűnő irodalmi út helyett?

Válasz: Ha az alábbi saját reakciók időtartamát



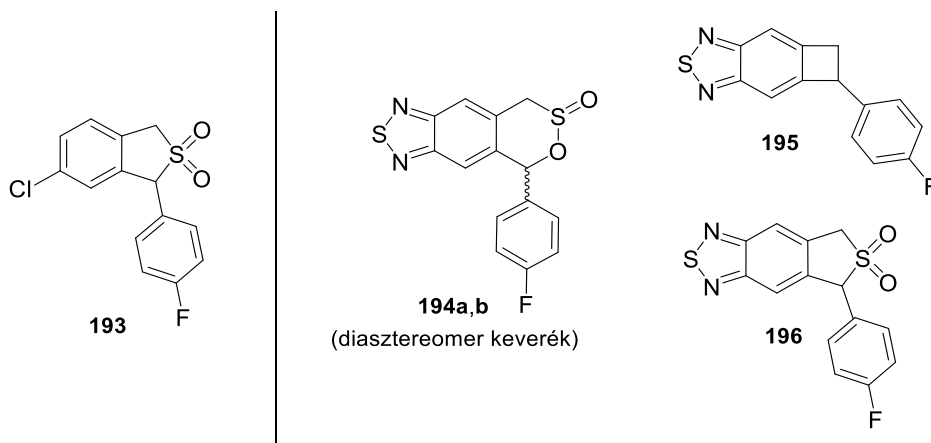
az itt látható irodalmi reakciókéval



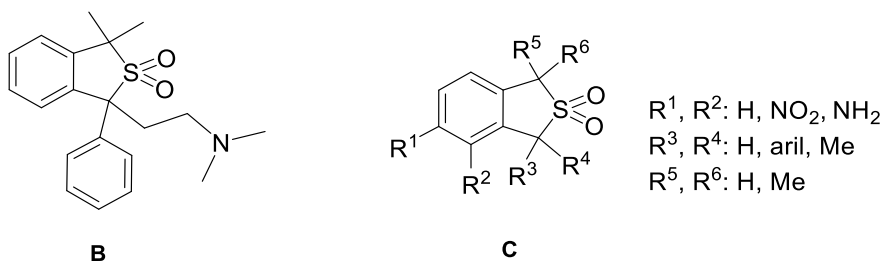
összevetjük, valóban praktikusabbnak látszik az irodalmi út alkalmazása. A reakciókat 2008-ban végeztük először, az akkori feljegyzéseket visszanezve úgy tűnik számomra, hogy a fenti, rövid reakcióidőket alkalmazó irodalmi forrás elkerülte a figyelmünket. Csak egy nagyon gyenge hozamokat leíró olasz cikket (G. G. Massaroli et al. *Boll. Chim. Farm.* **1966**, *105*, 400) tekintettünk releváns irodalmi előzménynek, mellyel összehasonlítva a saját reakcióink reprodukálhatósága és elfogadható hozama jelentős előrelépésnek tűnt, a több napos reakcióidők ellenére is.

8. Kérdés: Mi a véleménye, illetve ismert-e a gyűrűszűküléssel kapott szulfonoknak, illetve szultinoknak valamilyen farmakológiai hatása? Lehet-e a jövőben használni ezt a meglepő és érdekes reakciót potenciális farmakonok fejlesztésére vagy csupán elméleti kémiai érdekességgel bírnak?

Válasz: Konkrétan a két gyűrűszűkülési reakcióban keletkező, ábrán szereplő **193**, illetve **194–196** vegyületek az irodalomban nem voltak ismertek, mi írtuk le őket először. Ezek farmakológiai hatásával kapcsolatban nem rendelkezünk információval, gyógyszerként történő esetleges fejlesztésükhöz kémiai stabilitásuk mindenestre megfelelőnek látszik olyan értelemben, hogy szobahőmérsékleten tárolva több hónap után sem tapasztaltunk ^1H NMR spektrum alapján bomlást egyik származéknál sem.

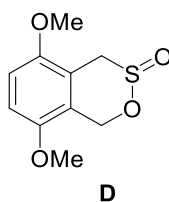


Tágabban értelmezve a kérdést, és rákeresve benzoszulfon szerkezeti részt hordozó molekulákra, számos biológiai, farmakológiai témájú irodalmi találat adódik. Pl. a **B** képletű vegyület fájdalomcsillapító hatása állatmodellekben meghaladta a morfinét (B. Fjalland et al. *Acta Pharmacol. et Toxicol.* **1973**, 32, 278). A **C** típusú vegyületek használhatóak arra, hogy fotolitikus körülmények között kontrollált módon SO_2 gázt generálnak (S. R. Malwal et al. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, 13, 2399), mely utóbbinak potenciális terápiás hatásával kapcsolatban több publikáció is megjelent.



Ezekon kívül nagyszámú szabadalmi bejelentés található, amelyek különböző terápiás területre szánt, benzoszulfon szerkezeti részt tartalmazó gyógyszerjelölt molekulákat írnak le. Mindazonáltal ezekben a molekulákban a benzoszulfon rész csak egy relatíve kis részletet jelent a teljes molekulához képest, és az egyes bejelentésekben megadott számos példavegyület közül csak némelyik, jelentős farmakológiai hatást nem mutató származékban van jelen ez a részlet, így ezeket itt nem ismertetem.

A benzoszultinok biológiai-farmakológiai irodalma szegényes, egyedüli releváns példaként a **D** képletű, növényi extraktumból kinyert vegyület említhető meg, amely antimikrobiális hatással rendelkezik (H. Rehana Banu et al. *J. Chem. Pharm. Res.* **2013**, 5, 279).



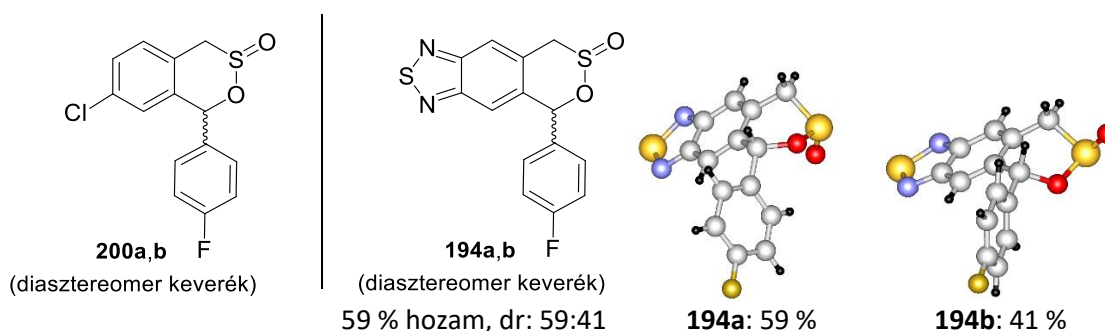
Összességében az általunk vizsgált gyűrűszűküléses reakció inkább elméleti és szintetikus kémiai jelentőségű, de a fenti, biológiai hatással bíró vegyületek közül az egyszerűbb (pl. **C**, **D**) vagy ezekkel rokon szerkezetű vegyületek előállítására is alkalmasnak látszik. Megjegyzendő ugyanakkor, hogy nálunk a gyűrűszűkülések csak a farmakológiai vizsgálati céllal előállított benzotiadiazepin-dioxidok alkilezése során tapasztalt mellékreakciókként jelentkeztek, a benzoszulfonok és benzoszultinok célzott szintézisére az irodalomban ennél praktikusabb módszer is ismeretes (S. R. Malwal et al. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 2399).

A benzoszultinok és benzoszulfonok legnagyobb jelentőségét egyébként szintetikus kémiai reagensként látom, mint *orto*-kinodimetán forrásokat Diels–Alder-reakciókban, melyek segítségével megfelelően szubsztituált tetrahidro-naftalin (ill. oxidációt követően naftalin) gyűrűt lehet kettős kötésre ráépíteni (D. C. Dittmer et al. *e-EROS Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis* **2009**, 1).

9. Kérdés: A szultin diasztereomerek keletkezése során megállapítható volt-e bármilyen szabályszerűség/irányítási elv a diasztereoizomer aránnyal kapcsolatban?

Válasz: Erre a kérdésre sajnos megfelelő mennyiségű adat hiányában nem tudok érdemben válaszolni. A klórszármazék esetén ugyanis a szultin diasztereomerek (**200a,b**) keletkezése csak elvi lehetőség volt, a gyakorlatban nem ezeket preparáltuk a reakcióból, illetve az elméleti számítások is alátámasztották, miért nem kedvezményezett energetikailag a keletkezésük.

Ezzel szemben a tiadiazolo analogon reakciójából főtermékként éppen a **194a,b** szultinok keletkeztek. A diasztereomer keveréket 59 % hozammal sikerült kinyernünk, a keverékben HPLC alapján 59 %, illetve 41 % volt a két izomer aránya, melyeket preparatív HPLC-vel elválasztottunk és teljeskörűen jellemeztünk.



Ezen kívül még a 4-fluorfenil helyett *para*-tolil csoportot tartalmazó tiadiazolo származékkal kapcsolatban van preparatív tapasztalatunk, melynél a szultin diasztereomer keverék – amelyet nem választottunk el – a körülményektől függően 52–54 % hozammal keletkezett (F. Bertha et al. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 1895). Ebben az esetben a két diasztereomer aránya a keverék ¹H NMR spektruma alapján 56:44, tehát nem különbözik számottevően a 4-fluor analogonoknál tapasztalttól.

Bár ettől függetlenül lehetne a termékösszetételt (benzoszulfon, benzoszultin, benzociklobutén), és ezen belül a benzoszultin diasztereomer arány változását vizsgálni a szubsztituensek és a reakciókörülmények függvényében, ehhez számos további kísérletre lenne szükség. A fenti kevés adat birtokában erre vonatkozóan megítélésem szerint nem lehet általános elveket megfogalmazni.

Budapest, 2020. február 20.



Volk Balázs